

PATENT COOPERATION TREATY

AFG

ANIKOM

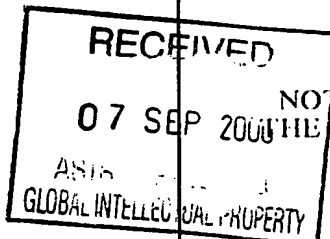
2000-09-04

From the INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

PCT

To:

AstraZeneca AB Global
Intellectual Property,
151 85 SÖDERTÄLJE

NOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
OR THE DECLARATION

(PCT Rule 44.1)

Date of mailing
(day/month/year)

04-09-2000

Applicant's or agent's file reference

H 2174-1 WO

FOR FURTHER ACTION See paragraphs 1 and 4 below

International application No.

PCT/SE00/00878

International filing date
(day/month/year)

04-05-2000

Applicant

AstraZeneca AB
et al

1. ☒ The applicant is hereby notified that the international search report has been established and is transmitted herewith.

Filing of amendments and statement under Article 19:

The applicant is entitled, if he so wishes, to amend the claims of the international application (see Rule 46):

When? The time limit for filing such amendments is normally 2 months from the date of transmittal of the international search report; however, for more details, see the notes on the accompanying sheet.

Where? To the International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Code: M24Date: 000919Sign: EF/K

For more detailed instructions, see notes on the accompanying sheet.

2. ☐ The applicant is hereby notified that no international search report will be established and that the declaration under Article 17(2)(a) to that effect is transmitted herewith.
3. ☐ With regard to the protest against payment of (an) additional fee(s) under Rule 40.2, the applicant is notified that:
- ☐ the protest together with the decision thereon has been transmitted to the International Bureau together with the applicant's request to forward the texts of both the protest and the decision thereon to the designated Offices.
- ☐ no decision has been made yet on the protest: the applicant will be notified as soon as a decision is made.

4. Further action(s): The applicant is reminded of the following:

Shortly after 18 months from the priority date, the international application will be published by the International Bureau. If the applicant wishes to avoid or postpone publication, a notice of withdrawal of the international application, or of the priority claim, must reach the International Bureau as provided in Rules 90bis.1 and 90bis.3, respectively, before the completion of the technical preparations for international publication.

Within 19 months from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed if the applicant wishes to postpone the entry into the national phase until 30 months from the priority date (in some Offices even later).

Within 20 months from the priority date, the applicant must perform the prescribed acts for entry into the national phase before all designated Offices which have not been elected within 19 months from the priority date or could not be elected because they are not bound by Chapter II.

Name and mailing address of the ISA/

Patent- och registreringsverket

Box 5055

S-102 42 STOCKHOLM

Facsimile No. 08-667 72 88

Telex

17978

PATOREG-S

Authorized officer

Inger Nilsson

Telephone No.

08-782 25 00

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

Applicant's or agent's file reference H 2174-1 WO	FOR FURTHER ACTION	see Notification of Transmittal of International Search Report (Form PCT/ISA/220) as well as, where applicable, item 5 below.
International application No. PCT/SE 00/00878	International filing date (day/month/year) 4 May 2000	(Earliest) Priority Date (day/month/year) 6 May 1999
Applicant AstraZeneca AB et al		

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

1. ☐ Certain claims were found unsearchable (See Box I).
2. ☐ Unity of invention is lacking (See Box II).
3. ☐ The international application contains disclosure of a nucleotide and/or amino acid sequence listing and the international search was carried out on the basis of the sequence listing
 - ☐ filed with the international application.
 - ☐ furnished by the applicant separately from the international application,
 - ☐ but not accompanied by a statement to the effect that it did not include matter going beyond the disclosure in the international application as filed.
 - ☐ transcribed by this Authority.
4. With regard to the title, ☐ the text is approved as submitted by the applicant.
☒ the text has been established by this Authority to read as follows:
 Human GABA_B receptor 1 promoters
5. With regard to the abstract,
 - ☒ the text is approved as submitted by the applicant.
 - ☐ the text has been established, according to Rule 38.2(b), by this Authority as it appears in Box III. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority.
6. The figure of the drawings to be published with the abstract is:
 - Figure No. ☐ as suggested by the applicant. ☒ None of the figures.
 - ☐ because the applicant failed to suggest a figure.
 - ☐ because this figure better characterizes the invention.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 00/00878

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7: C07K 14/705, A01K 67/027
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7: C07K, A01K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

SE,DK,FI,NO classes as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EMBL, Databas/GenBank/DBJ, Accession no. AL031983, Younger, R.: "Direct Submission"	1-31
	--	
X	Neurogenetics, Volume 2, 1998, Howard Christian Peters et al, "Mapping genomic structure, and polymorphisms of the human GABABR1 receptorgene: evaluation of its involvement in idiopathic generalized epilepsy", page 47 - page 54, see page 52, column 2, line 45 - line 50	1-31
	--	
X	WO 9746675 A1 (NOVARTIS AG), 11 December 1997 (11.12.97)	21-31
A		1-20
	--	

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

21 August 2000

Date of mailing of the international search report

04-09-2000

Name and mailing address of the ISA/

Swedish Patent Office
Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM
Facsimile No. +46 8 666 02 86

Authorized officer

Patrick Andersson/Eö
Telephone No. +46 8 782 25 00

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/SE 00/00878

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	WO 9921890 A1 (ASTRA AKTIEBOLAG), 6 May 1999 (06.05.99) -----	1-31

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

08/05/00

International application No.

PCT/SE 00/00878

Patent document cited in search report				Publication date		Patent family member(s)		Publication date	
WO	9746675	A1	11/12/97	AU	2028497	A	05/01/98		
				CA	2254862	A	11/12/97		
				EP	0907731	A	14/04/99		

WO	9921890	A1	06/05/99	AU	9772698	A	17/05/99		
				SE	9703914	D	00/00/00		
				SE	509734	C	01/03/99		
				SE	9500596	A	13/06/98		
				SE	9800864	D	00/00/00		
				WO	9962246	A	02/12/99		
				SE	9802575	D	00/00/00		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PCT

E }



国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第40、41条)
〔PCT 18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 F 9 4 3 - P C T	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 9 9 / 0 0 8 8 5	国際出願日 (日.月.年) 2 5 . 0 2 . 9 9	優先日 (日.月.年) 2 5 . 0 2 . 9 8
出願人 (氏名又は名称) 中外製薬株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT 18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☐ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 _____ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ 33/577, C07K14/47, C07K19/00, C12N15/12
//C07K16/18, C12P21/08, C12P21/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl.⁸ 33/577, C07K14/47, C07K19/00, C12N15/12
, C07K16/18, C12P21/08, C12P21/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ/GeneSeq, BIOSIS, WPI

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	T. Goto et al. "A Novel Membrane Selectively Expressed on Terminally Differentiated Human B Cells" Blood (1994) Vol. 84, No. 6, p1922-1930	1-12
P X	WO, 98/37913, A (Chugai Seiyaku KK) 03. 9月. 98 (03. 09. 98) & JP, 10-2 98106, A & AU, 9861181, A	1-12
P X	WO, 98/35698, A (Chugai Seiyaku KK) 20. 8月. 98 (20. 08. 98) & JP, 10-2 86088, A & AU, 9859563, A	1-12
P X	WO, 98/14580, A (Chugai Seiyaku KK) 09. 4月. 98 (09. 04. 98) & JP, 10-1 55494, A & AU, 9743992, A	1-12

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

18. 05. 99

国際調査報告の発送日

01.06.99

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

新見 浩一

4 N

9637

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

THIS PAGE BLANK (USPTO)

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference H 2174-1 WO	<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416) </div>	
International application No. PCT/SE00/00878	International filing date (day/month/year) 04.05.2000	Priority date (day/month/year) 06.05.1999
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C 07 K 14/705, A 01 K 67/027		
Applicant AstraZeneca AB et al		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 4 sheets, including this cover sheet.
- ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 30.10.2000	Date of completion of this report 06.09.2001
Name and mailing address of the IPEA/SE Patent- och registreringsverket Box 5053 S-102 42 STOCKHOLM Facsimile No. 08-667 72 83	Authorized officer Hampus Rystedt/EÖ Telephone No. 08-782 25 00

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/SE00/00878

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application:*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the claims:
pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement) under article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the drawings:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____
- ☐ the sequence listing part of the description:
pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rules 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages _____
- ☐ the claims, Nos. _____
- ☐ the drawings, sheet/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2 (c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item I and annexed to this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/SE00/00878

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	<u>1-31</u>	YES
	Claims	_____	NO
Inventive step (IS)	Claims	_____	YES
	Claims	<u>1-31</u>	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	<u>1-31</u>	YES
	Claims	_____	NO

2. Citations and explanations (Rule 70.7)

The claimed invention relates to nucleic acid molecules constituting a human GABAb receptor 1 promoter. Further, the application relates to subjects related to molecules such as vectors, host cells, expression systems and assays.

D1) Younger R. GeneBank accession no AL031983

D2) Peters HC et al., " Mapping, genomic structure, and polymorphism of the human GABAbR1-receptor gene: evaluation of its involvement in idiopathic generalized epilepsy", 1998, vol 2, pages 47-54

D3) WO97/466575, A1

D1 discloses the sequence of the chromosome loci encoding inter alia the GABAb receptor. D1 identifies two putative CpG islands in the region encoding the GABA receptor; CpG- islands are GC rich regions indicating transcription initiation e.g. for spliced variants. The CG-rich regions of D1 correspond to the promoters claimed (position bp 4520-5633(bp 2914-4027 of SEQ NO 1 according to numbering in the present application) and 9500-10376(bp 3985-4361 of SEQ NO 2 according to numbering in the present application).

D2 discloses the genomic structure of the human GABAbR1 receptor gene. D2 finds that the intron region between exons 1a4 and 1a (as defined in D2) probably contain the promoters for the GABAb R1b receptor. This region seems to correspond to the region above exon 6 (as defined in the present application) i.e. promoter Plb. Moreover, an additional exon is postulated above exon 1a1, refer to page 52 column 2, lines 45-56. In D2, polymorphism in the GABAb- receptor is studied in patients suffering from epilepsy. Polymorphisms in the regulatory region is said to be of interest.

.../...

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/SE00/00878

Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: V

How to find the promoter region of a known gene is considered to be obvious to a person skilled in the art unless an unexpected special technical problem is solved. In the present case, the information in D1 or D2 narrows the region of where to search; the cloning of the promoters is facilitated further. Thus, the invention according to claims 1-21 is novel has industrial applicability, but is considered to lack an inventive step.

D3 discloses a transgenic animal with a modulated expression of a GABAb receptor as well as a test system for identification of compounds effecting the expression of GABAb receptors, refer to page 19, lines 1-5 and claim 11. The control sequences used are not defined, however it seems obvious to a person skilled in the art that a promoter sequence may be used as a control sequence in the method of D3. Thus, the invention according to claims 21-31 is considered obvious to a person skilled in the art.

The invention according to claims 21-31 is novel, industrially applicable, but not considered to involve an inventive step.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 抗HM1. 24抗体及びHM1. 24抗原の免疫測定のための新規な方法の提供。

【解決手段】 可溶性HM1. 24抗原タンパク質と被験試料中に含まれる抗HM1. 24抗体とを反応させて、可溶性HM1. 24抗原タンパク質に結合した抗HM1. 24抗体を検出又は測定する工程を含む、抗HM1. 24抗体の免疫化学的測定方法；抗HM1. 24抗体と被験試料中に含まれる可溶性HM1. 24抗原タンパク質とを反応させて、抗HM1. 24抗体に結合した可溶性HM1. 24抗原タンパク質を検出又は測定する工程を含む、可溶性HM1. 24抗原タンパク質の免疫化学的測定方法。

【選択図】 なし

【書類名】 職権訂正データ
 【訂正書類】 特許願

<認定情報・付加情報>

【特許出願人】	
【識別番号】	000003311
【住所又は居所】	東京都北区浮間5丁目5番1号
【氏名又は名称】	中外製薬株式会社
【代理人】	申請人
【識別番号】	100077517
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビ ル 青和特許法律事務所
【氏名又は名称】	石田 敬
【代理人】	申請人
【識別番号】	100087871
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビ ル 青和特許法律事務所
【氏名又は名称】	福本 積
【代理人】	申請人
【識別番号】	100088269
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビ ル 青和特許法律事務所
【氏名又は名称】	戸田 利雄
【代理人】	申請人
【識別番号】	100082898
【住所又は居所】	東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37森ビ ル 青和特許法律事務所
【氏名又は名称】	西山 雅也

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000003311]

1. 変更年月日 1990年 9月 5日
[変更理由] 新規登録
住 所 東京都北区浮間5丁目5番1号
氏 名 中外製薬株式会社



2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

2000

が確認され（図18、レーン4）、発現ベクター pCOS1のみを導入したコントロール細胞（CHO/NEO）ではそのような免疫沈降物は確認されなかった（図18、レーン5）。

【0174】

P3.19は180アミノ酸からなる推定分子量19.8kDaのタンパクをコードしており、2カ所のN型糖鎖結合モチーフが存在している（図14）。従って、免疫沈降により認められた分子量の異なったものの存在は、N型糖鎖の修飾の違いによることが考えられた。事実、免疫沈降物が数種のレクチンと結合することが確認されている。

【0175】

【発明の効果】

本発明の免疫学的測定方法によれば、可溶性HM1.24抗原タンパク質又は抗HM1.24抗体を約500 pg/ml まで検出又は測定することが可能である。これまで、Cell Elisa で10ng/ml までしか検出又は測定できなかった可溶性HM1.24抗原タンパク質又は抗HM1.24抗体を高感度で迅速に、しかも大量の被験試料を同時に測定することが可能となった。

また、本発明の可溶性HM1.24抗原タンパク質及びそれをコードするDNA は、抗HM1.24抗体又は可溶性HM1.24抗原タンパク質の測定において有用である。

【0176】

配列表の説明

配列番号：1は、可溶性HM1.24抗原タンパク質の細胞外ドメインのアミノ酸配列及び塩基配列を示す。

配列番号：2は、リーダー配列、FLAGペプチド及び可溶性HM1.24抗原タンパク質からなる融合蛋白質のアミノ酸配列及び塩基配列を示す。1位のMet から18位のHis まではリーダー配列である。20位のAsp から27位のLys まではFLAGペプチドである。28位のGly および29位のThr はリンカーである。

【0177】

配列番号：3は、HAペプチド及び可溶性HM1.24抗原タンパク質からなる融合蛋白質のアミノ酸配列及び塩基配列を示す。1位のTyr から9位のAla まではHAペ

プチドである。28位のGly および29位のThr はリンカーである。

配列番号：4は、HAペプチド及びC末端を欠失させた可溶性HM1.24抗原タンパク質からなる融合蛋白質のアミノ酸配列及び塩基配列を示す。1位のTyr から9位のAla まではHAペプチドである。28位のGly および29位のThr はリンカーである。

【0178】

配列番号：5は、決定したCGM/HAの塩基配列及びHAペプチドのアミノ酸配列を示す。1位のTyr から9位のAla まではHAペプチドである。

配列番号：6は、決定したCGM/HA-HM164のアミノ酸配列および塩基配列を示す。1位のMet から20位のCys まではリーダー配列である。22位のTyr から30位のAla まではHAペプチドである。31位のGly および32位のThr はリンカーである。33位のAsn から151位のAla まではC末端を欠失させた可溶性HM1.24抗原タンパク質である。

配列番号：7は、プライマー-CMV/L の塩基配列を示す。

配列番号：8は、プライマー-BGH-1 の塩基配列を示す。

配列番号：9は、プライマー-Sol-1 の塩基配列を示す。

配列番号：10は、プライマー-Sol-2 の塩基配列を示す。

【0179】

配列番号：11は、プライマー-Sol-3 の塩基配列を示す。

配列番号：12は、リーダー配列及びFLAGペプチド配列を含む合成DNA ペアの一方の塩基配列を示す。

配列番号：13は、12は、リーダー配列及びFLAGペプチド配列を含む合成DNA ペアのもう一方の塩基配列を示す。

配列番号：14は、HAペプチド配列を含む合成DNA ペアの一方の塩基配列を示す。

配列番号：15は、HAペプチド配列を含む合成DNA ペアのもう一方の塩基配列を示す。

【0180】

配列番号：16は、細胞膜上に発現するヒトHM1.24抗原タンパク質のアミノ酸

配列および塩基配列を示す。

配列番号：17は、ヒト型化抗HM1.24抗体のL鎖V領域aバージョンのアミノ酸配列および塩基配列を示す。

配列番号：18は、ヒト型化抗HM1.24抗体のH鎖V領域rバージョンのアミノ酸配列および塩基配列を示す。

配列番号：19は、ヒト型化抗HM1.24抗体のH鎖V領域sバージョンのアミノ酸配列および塩基配列を示す。

【0181】

【配列表】

配列番号：1

配列の長さ：399

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

配列

AAC AGC GAG GCC TGC CGG GAC GGC CTT CGG GCA GTG ATG GAG TGT CGC	48
Asn Ser Glu Ala Cys Arg Asp Gly Leu Arg Ala Val Met Glu Cys Arg	
1 5 10 15	
AAT GTC ACC CAT CTC CTG CAA CAA GAG CTG ACC GAG GCC CAG AAG GGC	96
Asn Val Thr His Leu Leu Gln Gln Glu Leu Thr Glu Ala Gln Lys Gly	
20 25 30	
TTT CAG GAT GTG GAG GCC CAG GCC GCC ACC TGC AAC CAC ACT GTG ATG	144
Phe Gln Asp Val Glu Ala Gln Ala Ala Thr Cys Asn His Thr Val Met	
35 40 45	
GCC CTA ATG GCT TCC CTG GAT GCA GAG AAG GCC CAA GGA CAA AAG AAA	192
Ala Leu Met Ala Ser Leu Asp Ala Glu Lys Ala Gln Gly Gln Lys Lys	
50 55 60	
GTG GAG GAG CTT GAG GGA GAG ATC ACT ACA TTA AAC CAT AAG CTT CAG	240
Val Glu Glu Leu Glu Gly Glu Ile Thr Thr Leu Asn His Lys Leu Gln	
65 70 75 80	
GAC GCG TCT GCA GAG GTG GAG CGA CTG AGA AGA GAA AAC CAG GTC TTA	288
Asp Ala Ser Ala Glu Val Glu Arg Leu Arg Arg Glu Asn Gln Val Leu	
85 90 95	

AGC GTG AGA ATC GCG GAC AAG AAG TAC TAC CCC AGC TCC CAG GAC TCC 336
 Ser Val Arg Ile Ala Asp Lys Lys Tyr Tyr Pro Ser Ser Gln Asp Ser
 100 105 110

AGC TCC GCT GCG GCG CCC CAG CTG CTG ATT GTG CTG CTG GGC CTC AGC 384
 Ser Ser Ala Ala Ala Pro Gln Leu Leu Ile Val Leu Leu Gly Leu Ser
 115 120 125

GCT CTG CTG CAG TGA 399
 Ala Leu Leu Gln
 130

【 0 1 8 2 】

配列番号 : 2

配列の長さ : 5 1 0

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA

配列

GAATTCAC C ATG GGA TGG AGC TGT ATC ATC CTC TTC TTG GTA GCA 47
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala
 1 5 10

ACA GCT ACA GGT GTC CAC TCC GAC TAC AAA GAC GAT GAC GAT AAA GGT 95
 Thr Ala Thr Gly Val His Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly
 15 20 25

ACC AAC AGC GAG GCC TGC CGG GAC GGC CTT CGG GCA GTG ATG GAG TGT 143
 Thr Asn Ser Glu Ala Cys Arg Asp Gly Leu Arg Ala Val Met Glu Cys
 30 35 40

CGC AAT GTC ACC CAT CTC CTG CAA CAA GAG CTG ACC GAG GCC CAG AAG 191
 Arg Asn Val Thr His Leu Leu Gln Gln Glu Leu Thr Glu Ala Gln Lys
 45 50 55 60

特平 10-060613

GGC TTT CAG GAT GTG GAG GCC CAG GCC GCC ACC TGC AAC CAC ACT GTG 239
Gly Phe Gln Asp Val Glu Ala Gln Ala Ala Thr Cys Asn His Thr Val
65 70 75
ATG GCC CTA ATG GCT TCC CTG GAT GCA GAG AAG GCC CAA GGA CAA AAG 287
Met Ala Leu Met Ala Ser Leu Asp Ala Glu Lys Ala Gln Gly Gln Lys
80 85 90
AAA GTG GAG GAG CTT GAG GGA GAG ATC ACT ACA TTA AAC CAT AAG CTT 335
Lys Val Glu Glu Leu Glu Gly Glu Ile Thr Thr Leu Asn His Lys Leu
95 100 105
CAG GAC GCG TCT GCA GAG GTG GAG CGA CTG AGA AGA GAA AAC CAG GTC 383
Gln Asp Ala Ser Ala Glu Val Glu Arg Leu Arg Arg Glu Asn Gln Val
110 115 120
TTA AGC GTG AGA ATC GCG GAC AAG AAG TAC TAC CCC AGC TCC CAG GAC 431
Leu Ser Val Arg Ile Ala Asp Lys Lys Tyr Tyr Pro Ser Ser Gln Asp
125 130 135 140
TCC AGC TCC GCT GCG GCG CCC CAG CTG CTG ATT GTG CTG CTG GGC CTC 479
Ser Ser Ser Ala Ala Ala Pro Gln Leu Leu Ile Val Leu Leu Gly Leu
145 150 155
AGC GCT CTG CTG CAG TGAGATCCCA GGATCC 510
Ser Ala Leu Leu Gln

160

【0183】

配列番号：3

配列の長さ：445

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

配列

TAC CCA TAC GAC GTC CCA GAC TAC GCT GGT ACC AAC AGC GAG GCC TGC	48
Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Val Tyr Ala Gly Thr Asn Ser Glu Ala Cys	
1 5 10 15	
CGG GAC GGC CTT CGG GCA GTG ATG GAG TGT CGC AAT GTC ACC CAT CTC	96
Arg Asp Gly Leu Arg Ala Val Met Glu Cys Arg Asn Val Thr His Leu	
20 25 30	
CTG CAA CAA GAG CTG ACC GAG GCC CAG AAG GGC TTT CAG GAT GTG GAG	144
Leu Gln Gln Glu Leu Thr Glu Ala Gln Lys Gly Phe Gln Asp Val Glu	
35 40 45	
GCC CAG GCC GCC ACC TGC AAC CAC ACT GTG ATG GCC CTA ATG GCT TCC	192
Ala Gln Ala Ala Thr Cys Asn His Thr Val Met Ala Leu Met Ala Ser	
50 55 60	
CTG GAT GCA GAG AAG GCC CAA GGA CAA AAG AAA GTG GAG GAG CTT GAG	240
Leu Asp Ala Glu Lys Ala Gln Gly Gln Lys Lys Val Glu Glu Leu Glu	
65 70 75 80	
GGA GAG ATC ACT ACA TTA AAC CAT AAG CTT CAG GAC GCG TCT GCA GAG	288
Gly Glu Ile Thr Thr Leu Asn His Lys Leu Gln Asp Ala Ser Ala Glu	
85 90 95	
GTG GAG CGA CTG AGA AGA GAA AAC CAG GTC TTA AGC GTG AGA ATC GCG	336
Val Glu Arg Leu Arg Arg Glu Asn Gln Val Leu Ser Val Arg Ile Ala	
100 105 110	
GAC AAG AAG TAC TAC CCC AGC TCC CAG GAC TCC AGC TCC GCT GCG GCG	384
Asp Lys Lys Tyr Tyr Pro Ser Ser Gln Asp Ser Ser Ser Ala Ala Ala	
115 120 125	
CCC CAG CTG CTG ATT GTG CTG CTG GGC CTC AGC GCT CTG CTG CAG	429
Pro Gln Leu Leu Ile Val Leu Leu Gly Leu Ser Ala Leu Leu Gln	
130 135 140	
TGAGATCCCA GGATCC	445

【 0 1 8 4 】

特平 10-060613

配列番号 : 4

配列の長さ : 387

配列の型 : 核酸

鎖の数 : 二本鎖

トポロジー : 直鎖状

配列の種類 : cDNA

配列

TAC CCA TAC GAC GTC CCA GAC TAC GCT GGT ACC AAC AGC GAG GCC TGC	48
Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Val Tyr Ala Gly Thr Asn Ser Glu Ala Cys	
1 5 10 15	
CGG GAC GGC CTT CGG GCA GTG ATG GAG TGT CGC AAT GTC ACC CAT CTC	96
Arg Asp Gly Leu Arg Ala Val Met Glu Cys Arg Asn Val Thr His Leu	
20 25 30	
CTG CAA CAA GAG CTG ACC GAG GCC CAG AAG GGC TTT CAG GAT GTG GAG	144
Leu Gln Gln Glu Leu Thr Glu Ala Gln Lys Gly Phe Gln Asp Val Glu	
35 40 45	
GCC CAG GCC GCC ACC TGC AAC CAC ACT GTG ATG GCC CTA ATG GCT TCC	192
Ala Gln Ala Ala Thr Cys Asn His Thr Val Met Ala Leu Met Ala Ser	
50 55 60	
CTG GAT GCA GAG AAG GCC CAA GGA CAA AAG AAA GTG GAG GAG CTT GAG	240
Leu Asp Ala Glu Lys Ala Gln Gly Gln Lys Lys Val Glu Glu Leu Glu	
65 70 75 80	
GGA GAG ATC ACT ACA TTA AAC CAT AAG CTT CAG GAC GCG TCT GCA GAG	288
Gly Glu Ile Thr Thr Leu Asn His Lys Leu Gln Asp Ala Ser Ala Glu	
85 90 95	
GTG GAG CGA CTG AGA AGA GAA AAC CAG GTC TTA AGC GTG AGA ATC GCG	336
Val Glu Arg Leu Arg Arg Glu Asn Gln Val Leu Ser Val Arg Ile Ala	
100 105 110	

GAC AAG AAG TAC TAC CCC AGC TCC CAG GAC TCC AGC TCC GCT 378
 Asp Lys Lys Tyr Tyr Pro Ser Ser Gln Asp Ser Ser Ser Ala
 115 120 125

TGAGGATCC

387

【0185】

配列番号：5

配列の長さ：85

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

配列

CTCTGGCTCC CAGGTGCACG ATGTGCA TAC CCA TAC GAC GTC CCA GAC TAC 51
 Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Val Tyr
 1 5

GCT GGTACCAAGG TGGAAATCAA ACGTACGGAA T 85
 Ala

【0186】

配列番号：6

配列の長さ：535

配列の型：核酸

鎖の数：二本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

配列

AGATCTCTCA CC ATG AGG GTC CCC GCT CAG CTC CTG GGG CTC CTG CTG 48
 Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu
 1 5 10

特平 1 0 — 0 6 0 6 1 3

CTC TGG CTC CCA GGT GCA CGA TGT GCA TAC CCA TAC GAC GTC CCA GAC	96
Leu Trp Leu pro Gly Ala Arg Cys Ala Tyr Pro Tyr Asp Val Pro Val	
15 20 25	
TAC GCT GGT ACC AAC AGC GAG GCC TGC CGG GAC GGC CTT CGG GCA GTG	144
Tyr Ala Gly Thr Asn Ser Glu Ala Cys Arg Asp Gly Leu Arg Ala Val	
30 35 40	
ATG GAG TGT CGC AAT GTC ACC CAT CTC CTG CAA CAA GAG CTG ACC GAG	192
Met Glu Cys Arg Asn Val Thr His Leu Leu Gln Gln Glu Leu Thr Glu	
45 50 55 60	
GCC CAG AAG GGC TTT CAG GAT GTG GAG GCC CAG GCC GCC ACC TGC AAC	240
Ala Gln Lys Gly Phe Gln Asp Val Glu Ala Gln Ala Ala Thr Cys Asn	
65 70 75	
CAC ACT GTG ATG GCC CTA ATG GCT TCC CTG GAT GCA GAG AAG GCC CAA	288
His Thr Val Met Ala Leu Met Ala Ser Leu Asp Ala Glu Lys Ala Gln	
80 85 90	
GGA CAA AAG AAA GTG GAG GAG CTT GAG GGA GAG ATC ACT ACA TTA AAC	336
Gly Gln Lys Lys Val Glu Glu Leu Glu Gly Glu Ile Thr Thr Leu Asn	
95 100 105	
CAT AAG CTT CAG GAC GCG TCT GCA GAG GTG GAG CGA CTG AGA AGA GAA	384
His Lys Leu Gln Asp Ala Ser Ala Glu Val Glu Arg Leu Arg Arg Glu	
110 115 120	
AAC CAG GTC TTA AGC GTG AGA ATC GCG GAC AAG AAG TAC TAC CCC AGC	432
Asn Gln Val Leu Ser Val Arg Ile Ala Asp Lys Lys Tyr Tyr Pro Ser	
125 130 135 140	
TCC CAG GAC TCC AGC TCC GCT TGAGGATCCT ATGGTTACCA ACTACCTAGA	483
Ser Gln Asp Ser Ser Ser Ala	
145	
CTGGATTTCGT GACAACATGC GGCCGTGATA TCTACGTATG ATCAGCCTCG AC	535

配列番号：7

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

配列

GGCCGCATGT TGTCACGAAT

20

【0188】

配列番号：8

配列の長さ：20

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

配列

ATCGCCTGGA GACGCCATCA

20

【0189】

配列番号：9

配列の長さ：27

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

配列

TAAAGGTACC AACAGCGAGG CCTGCCG

27

【0190】

配列番号：10

配列の長さ：28

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

配列

CTGCTGCAGT GAGATCCCAG GATCCATA

28

【0191】

配列番号：11

配列の長さ：30

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

配列

CAGGACTCCA GCTCCGCTTG AGGATCCTAT

30

【0192】

配列番号：12

配列の長さ：106

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

配列

AATCCCACC ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGTGT 60

CCACTCCGAC TACAAAGACG ATGACGATAA AGGTACCGCG GCCGCG 106

【0193】

配列番号：13

配列の長さ：106

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

配列

GATCCGCGGC CGCGGTACCT TTATCGTCAT CGTCTTTGTA GTCGGAGTGG ACACCTGTAG 60
CTGTTGCTAC CAAGAAGAGG ATGATACAGC TCCATCCCAT GGTGGG 106

【0194】

配列番号：14

配列の長さ：37

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

配列

GTGCATACCC ATACGACGTC CCAGACTACG CTGGTAC 37

【0195】

配列番号：15

配列の長さ：36

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

トポロジー：直鎖状

配列の種類：合成DNA

配列

CAGCGTAGTC TGGGACGTCG TATGGGTATG CACATC 36

【0196】

配列番号：16

配列の長さ：1014

配列の型：核酸

鎖の数：一本鎖

特平 10-060613

トポロジー：直線状

配列の種類：cDNA

配列

GAATTCGGCA CGAGGGATCT GG ATG GCA TCT ACT TCG TAT GAC TAT TGC	49
Met Ala Ser Thr Ser Tyr Asp Tyr Cys	
1 5	
AGA GTG CCC ATG GAA GAC GGG GAT AAG CGC TGT AAG CTT CTG CTG GGG	97
Arg Val Pro Met Glu Asp Gly Asp Lys Arg Cys Lys Leu Leu Leu Gly	
10 15 20 25	
ATA GGA ATT CTG GTG CTC CTG ATC ATC GTG ATT CTG GGG GTG CCC TTG	145
Ile Gly Ile Leu Val Leu Leu Ile Ile Val Ile Leu Gly Val Pro Leu	
30 35 40	
ATT ATC TTC ACC ATC AAG GCC AAC AGC GAG GCC TGC CGG GAC GGC CTT	193
Ile Ile Phe Thr Ile Lys Ala Asn Ser Glu Ala Cys Arg Asp Gly Leu	
45 50 55	
CGG GCA GTG ATG GAG TGT CGC AAT GTC ACC CAT CTC CTG CAA CAA GAG	241
Arg Ala Val Met Glu Cys Arg Asn Val Thr His Leu Leu Gln Gln Glu	
60 65 70	
CTG ACC GAG GCC CAG AAG GGC TTT CAG GAT GTG GAG GCC CAG GCC GCC	289
Leu Thr Glu Ala Gln Lys Gly Phe Gln Asp Val Glu Ala Gln Ala Ala	
75 80 85	
ACC TGC AAC CAC ACT GTG ATG GCC CTA ATG GCT TCC CTG GAT GCA GAG	337
Thr Cys Asn His Thr Val Met Ala Leu Met Ala Ser Leu Asp Ala Glu	
90 95 100 105	
AAG GCC CAA GGA CAA AAG AAA GTG GAG GAG CTT GAG GGA GAG ATC ACT	385
Lys Ala Gln Gly Gln Lys Lys Val Glu Glu Leu Glu Gly Glu Ile Thr	
110 115 120	

ACA TTA AAC CAT AAG CTT CAG GAC GCG TCT GCA GAG GTG GAG CGA CTG	433
Thr Leu Asn His Lys Leu Gln Asp Ala Ser Ala Glu Val Glu Arg Leu	
125 130 135	
AGA AGA GAA AAC CAG GTC TTA AGC GTG AGA ATC GCG GAC AAG AAG TAC	481
Arg Arg Glu Asn Gln Val Leu Ser Val Arg Ile Ala Asp Lys Lys Tyr	
140 145 150	
TAC CCC AGC TCC CAG GAC TCC AGC TCC GCT GCG GCG CCC CAG CTG CTG	529
Tyr Pro Ser Ser Gln Asp Ser Ser Ser Ala Ala Ala Pro Gln Leu Leu	
155 160 165	
ATT GTG CTG CTG GGC CTC AGC GCT CTG CTG CAG TGAGATCCCA GGAAGCTGGC	582
Ile Val Leu Leu Gly Leu Ser Ala Leu Leu Gln	
170 175 180	
ACATCTTGGA AGGTCCGTCC TGCTCGGCTT TTCGCTTGAA CATTCCCTTG ATCTCATCAG	642
TTCTGAGCGG GTCATGGGGC AACACGGTTA GCGGGGAGAG CACGGGGTAG CCGGAGAAGG	702
GCCTCTGGAG CAGGTCTGGA GGGGCCATGG GGCAGTCCTG GGTGTGGGGA CACAGTCGGG	762
TTGACCCAGG GCTGTCTCCC TCCAGAGCCT CCCTCCGGAC AATGAGTCCC CCCTCTTGTC	822
TCCCACCCTG AGATTGGGCA TGGGGTGCGG TGTGGGGGGC ATGTGCTGCC TGTTGTTATG	882
GGTTTTTTTT GCGGGGGGGG TTGCTTTTTT CTGGGGTCTT TGAGCTCCAA AAAAATAAAC	942
ACTTCCTTTG AGGGAGAGCA CACCTTAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAATTC	1002
GGGCGGCCGC CA	1014

【0197】

配列番号：17

配列の長さ：379

配列の型：核酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

配列

特平 1 0 - 0 6 0 6 1 3

ATG GGA TGG AGC TGT ATC ATC CTC TCC TTG GTA GCA ACA GCT ACA GGT	48
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Ser Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly	
-15 -10 -5	
GTC CAC TCC GAC ATC CAG ATG ACC CAG AGC CCA AGC AGC CTG AGC GCC	96
Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala	
-1 1 5 10	
AGC GTG GGT GAC AGA GTG ACC ATC ACC TGT AAG GCT AGT CAG GAT GTG	144
Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln Asp Val	
15 20 25	
AAT ACT GCT GTA GCC TGG TAC CAG CAG AAG CCA GGA AAG GCT CCA AAG	192
Asn Thr Ala Val Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys	
30 35 40 45	
CTG CTG ATC TAC TCG GCA TCC AAC CGG TAC ACT GGT GTG CCA AGC AGA	240
Leu Leu Ile Tyr Ser Ala Ser Asn Arg Tyr Thr Gly Val Pro Ser Arg	
50 55 60	
TTC AGC GGT AGC GGT AGC GGT ACC GAC TTC ACC TTC ACC ATC AGC AGC	288
Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser	
65 70 75	
CTC CAG CCA GAG GAC ATC GCT ACC TAC TAC TGC CAG CAA CAT TAT AGT	336
Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln His Tyr Ser	
80 85 90	
ACT CCA TTC ACG TTC GGC CAA GGG ACC AAG GTG GAA ATC AAA C	379
Thr Pro Phe Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys	
95 100 105	

【 0 1 9 8 】

配列番号 : 1 8

配列の長さ : 4 1 8

配列の型 : 核酸

トポロジー : 直鎖状

配列の種類: cDNA

配列

ATG GAC TGG ACC TGG AGG GTC TTC TTC TTG CTG GCT GTA GCT CCA GGT	48
Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Phe Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly	
-15 -10 -5	
GCT CAC TCC CAG GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG	96
Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys	
-1 1 5 10	
CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTT TCC TGC AAG GCA TCT GGA TAC ACC TTC	144
Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe	
15 20 25	
ACT CCC TAC TGG ATG CAG TGG GTG CGA CAG GCC CCT GGA CAA GGG CTT	192
Thr Pro Tyr Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu	
30 35 40 45	
GAG TGG ATG GGA TCT ATT TTT CCT GGA GAT GGT GAT ACT AGG TAC AGT	240
Glu Trp Met Gly Ser Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Ser	
50 55 60	
CAG AAG TTC AAG GGC AGA GTC ACC ATG ACC GCA GAC AAG TCC ACG AGC	288
Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Met Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser	
65 70 75	
ACA GCC TAC ATG GAG CTG AGC AGC CTG AGA TCT GAG GAC ACG GCC GTG	336
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val	
80 85 90	
TAT TAC TGT GCG AGA GGA TTA CGA CGA GGG GGG TAC TAC TTT GAC TAC	384
Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Arg Arg Gly Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr	
95 100 105	
TGG GGG CAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA G	418
Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser	
110 115 120	

特平 10-060613

【0199】

配列番号：19

配列の長さ：418

配列の型：核酸

トポロジー：直鎖状

配列の種類：cDNA

配列

ATG GAC TGG ACC TGG AGG GTC TTC TTC TTG CTG GCT GTA GCT CCA GGT	48
Met Asp Trp Thr Trp Arg Val Phe Phe Leu Leu Ala Val Ala Pro Gly	
-15 -10 -5	
GCT CAC TCC CAG GTG CAG CTG GTG CAG TCT GGG GCT GAG GTG AAG AAG	96
Ala His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys	
-1 1 5 10	
CCT GGG GCC TCA GTG AAG GTT TCC TGC AAG GCA TCT GGA TAC ACC TTC	144
Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe	
15 20 25	
ACT CCC TAC TGG ATG CAG TGG GTG CGA CAG GCC CCT GGA CAA GGG CTT	192
Thr Pro Tyr Trp Met Gln Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu	
30 35 40 45	
GAG TGG ATG GGA TCT ATT TTT CCT GGA GAT GGT GAT ACT AGG TAC AGT	240
Glu Trp Met Gly Ser Ile Phe Pro Gly Asp Gly Asp Thr Arg Tyr Ser	
50 55 60	
CAG AAG TTC AAG GGC AGA GTC ACC ATC ACC GCA GAC AAG TCC ACG AGC	288
Gln Lys Phe Lys Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Lys Ser Thr Ser	
65 70 75	
ACA GCC TAC ATG GAG CTG AGC AGC CTG AGA TCT GAG GAC ACG GCC GTG	336
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val	
80 85 90	

TAT TAC TGT GCG AGA GGA TTA CGA CGA GGG GGG TAC TAC TTT GAC TAC 384

Tyr Tyr Cys Ala Arg Gly Leu Arg Arg Gly Gly Tyr Tyr Phe Asp Tyr

95

100

105

TGG GGG CAA GGG ACC ACG GTC ACC GTC TCC TCA G

418

Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser

110

115

120

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1は、HAタグを発現する遺伝子を挿入したベクターCGM/HAの塩基配列を解読した範囲を示した模式図である。

【図2】

図2は、HAタグ付加可溶性抗原を用いたsandwich ELISA系を示す模式図である。

【図3】

図3は、HAタグ付加可溶性抗原を一過性に発現させたCOS-7細胞の培養上清を用いたsandwich ELISA系におけるヒト型化抗HM1.24抗体の標準曲線を示すグラフである。

【図4】

図4は、HAタグ付加可溶性抗原を安定産生させたCHO細胞による培養上清を用いたsandwich ELISA系におけるヒト型化抗HM1.24抗体の標準曲線を示すグラフである。

【図5】

図5は、HAタグ付加可溶性抗原を用いたsandwich ELISA系にてキメラ型抗HM1.24抗体を投与したアカゲザルの血中抗体濃度の推移を測定した結果を示したグラフである。

【図6】

図6は、HAタグ付加可溶性抗原を用いたsandwich ELISA系において、ヒト型化抗HM1.24抗体はキメラ型抗HM1.24抗体と同様にビオチン標識マウス抗HM1.24抗体のHAタグ付加可溶性抗原への結合を濃度依存的に阻害していることを示すグラフである。

【図7】

図7は、HAタグ付加可溶性抗原を安定産生させたCHO細胞を用いたFCM解析において、マウス抗HM1.24抗体（左半分のパネル）、抗HA抗体（右半分のパネル）の蛍光強度が、コントロール抗体（波線で示した）に比べシフトしていることを示すグラフである。なお、#1はG418で選択したCHO細胞株、#Aは#1細胞を親株と

して5 nMのMTX で選択したCHO 細胞株である。

【図 8】

図 8 は、HAタグ付加可溶性抗原を安定産生させたCHO 細胞による培養上清および細胞溶解物を還元状態にてSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った後、マウスHM1.24抗体によるwestern blotを行い、HM1.24抗原を検出した結果を示す図面代用写真である。なお、#1はG418で選択したCHO 細胞株、#A、#B、#Cは#1細胞を親株として5 nMのMTX で選択したCHO 細胞株であり、またKPM2 細胞溶解物はHM1.24抗原の陽性コントロールである。

【図 9】

図 9 は、HAタグ付加可溶性抗原を安定産生させたCHO 細胞#C株による培養上清および細胞溶解物を還元状態および非還元状態にてSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った後、マウスHM1.24抗体によるwestern blotを行い、HM1.24抗原を検出した結果を示す図面代用写真である。なお、#C株は5 nMのMTX で選択したCHO 細胞株であり、またKPM2 細胞溶解物はHM1.24抗原の陽性コントロールである。

【図 10】

図 10 は、HAタグ付加C 端削除可溶性HM1.24抗原発現ベクターCGM/HA-HM164の塩基配列を解読した範囲を示した模式図である。

【図 11】

図 11 は、HAタグ付加C 端削除可溶性HM1.24抗原を発現させたCOS-7 細胞による培養上清を用いたsandwich ELISA系におけるヒト型化抗HM1.24抗体の標準曲線を示すグラフである。

【図 12】

図 12 は、HAタグ付加C 端削除可溶性HM1.24抗原を発現させたCHO 細胞による培養上清を用いたsandwich ELISA系におけるヒト型化抗HM1.24抗体の標準曲線を示すグラフである。

【図 13】

図 13 は、HAタグ付加C 端削除可溶性HM1.24抗原を産生させたCOS-7 細胞もしくはCHO 細胞（#2、#21、#28）による培養上清および細胞溶解物を還元状態に

てSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行った後、マウスHM1.24抗体によるwestern blotを行い、HM1.24抗原を検出した結果を示す図面代用写真である。なお、CHO/sHM はHAタグ付加可溶性HM1.24抗原を発現させたCHO 細胞であり、その培養上清をHM1.24抗原の陽性コントロールとして用いている。

【図14】

図14は、HM1.24抗原タンパク質をコードするcDNAの塩基配列及び対応するアミノ酸配列を示す図である。

【図15】

図15は、HM1.24抗原タンパク質をコードするcDNAの塩基配列及び対応するアミノ酸配列を示す図である。

【図16】

図16は、Panning法を用いて単離したクローンP3.19及び免疫スクリーニング法により単離された5つのクローン（IS1～IS5）の模式図である。

【図17】

図17は、抗HM1.24抗体（A；CHO/NEO，B；CHO/HM）を用いたフローサイトメトリー解析の結果を示す図である。抗HM1.24抗体のヒストグラムは実線で、アイソタイプの一一致したコントロール抗体（UPC10）のヒストグラムは波線で示す。なお、横軸は蛍光強度を、縦軸は細胞数を示す。

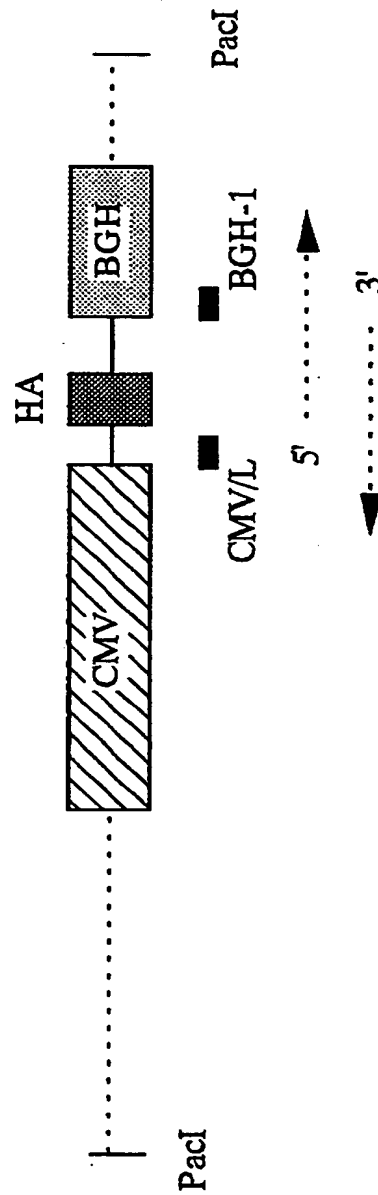
【図18】

図18は、各種細胞株およびHM1.24発現CHO細胞におけるHM1.24抗原の発現を抗HM1.24抗体を用いた免疫沈降・ウェスタンブロッティング法により検出した結果を示す図面代用写真である。抗HM1.24抗体結合セファロス4B（レーン1～6）または非結合セファロス4B（レーン7及び8）を用いて免疫沈降を行った後、抗HM1.24抗体を用いてウェスタン・ブロッティングを行い、HM1.24抗原の検出を行った（右側に表示）。（*；抗HM1.24抗体H鎖）

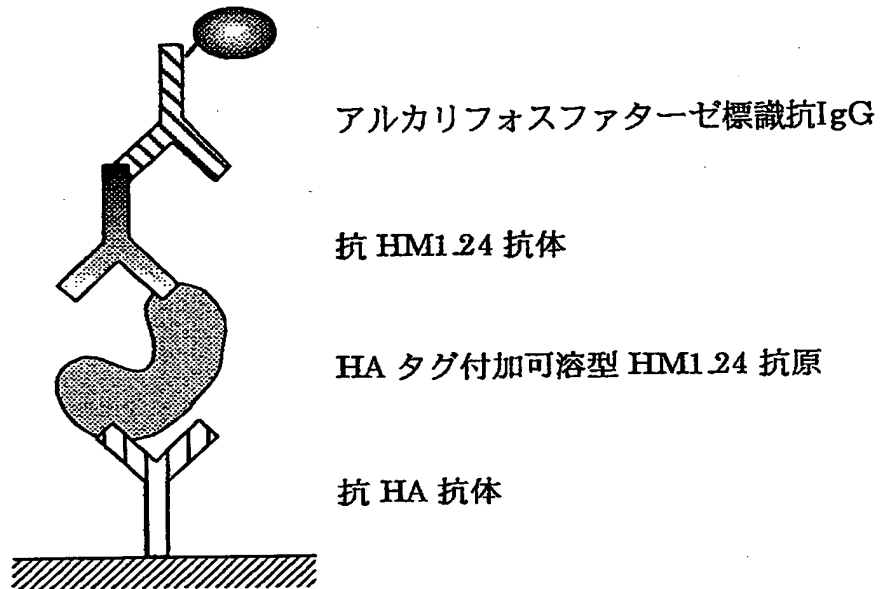
【書類名】

図面

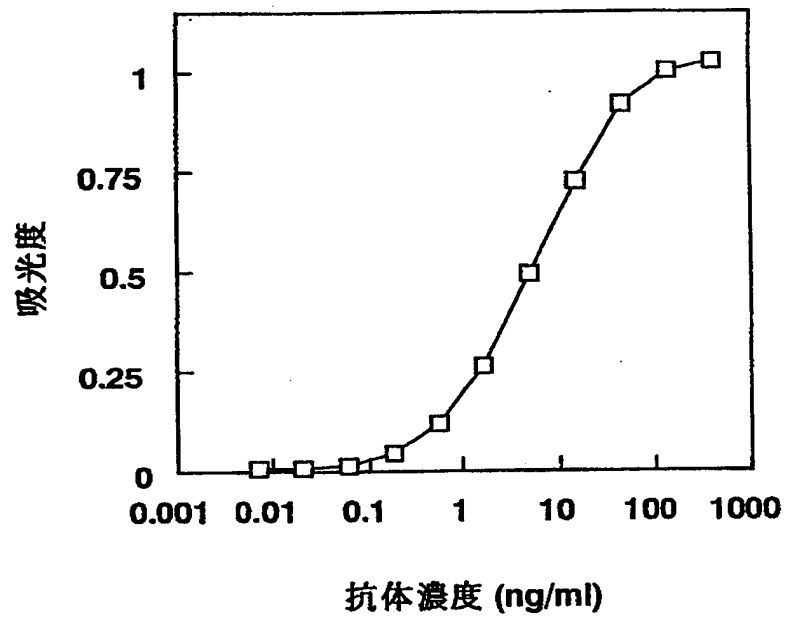
【図 1】



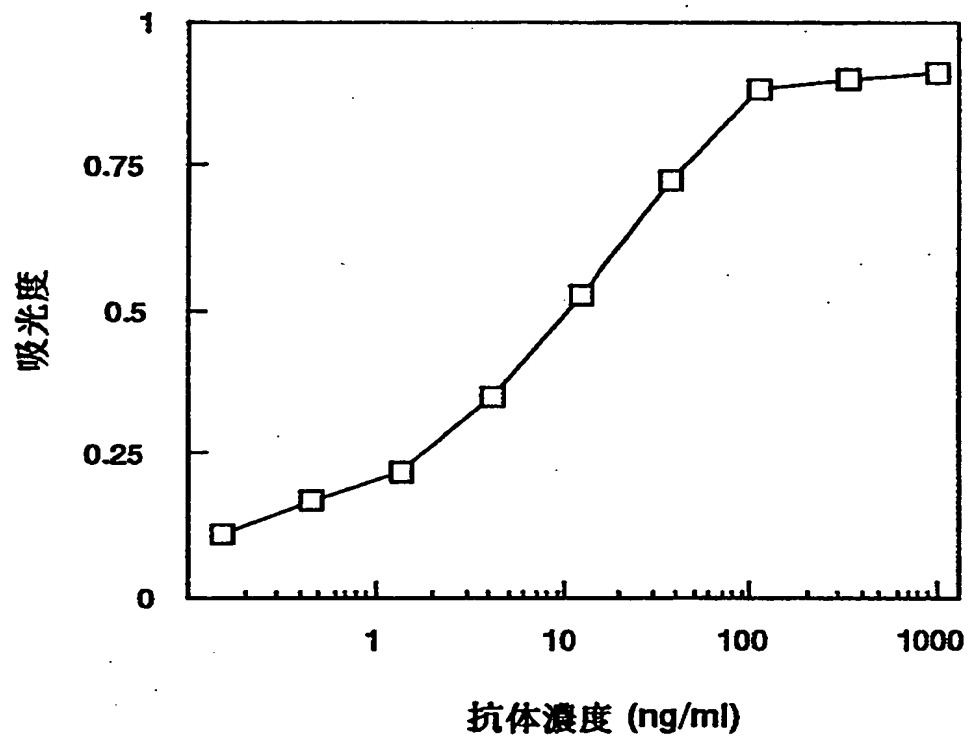
【図 2】



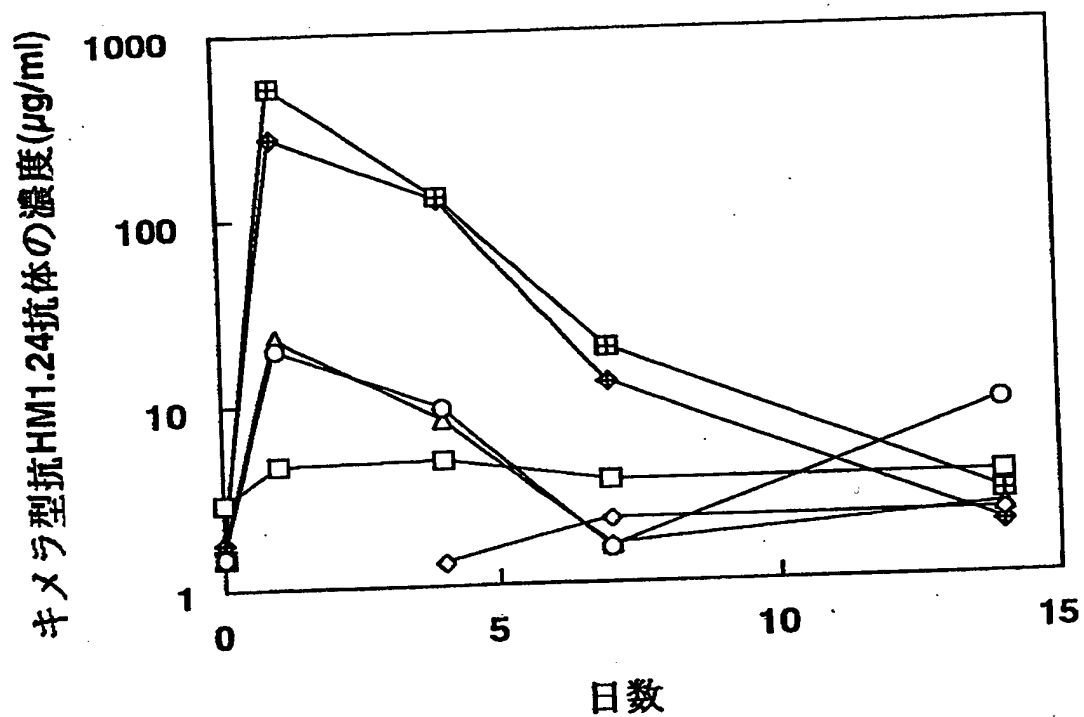
【図 3】



【図 4】

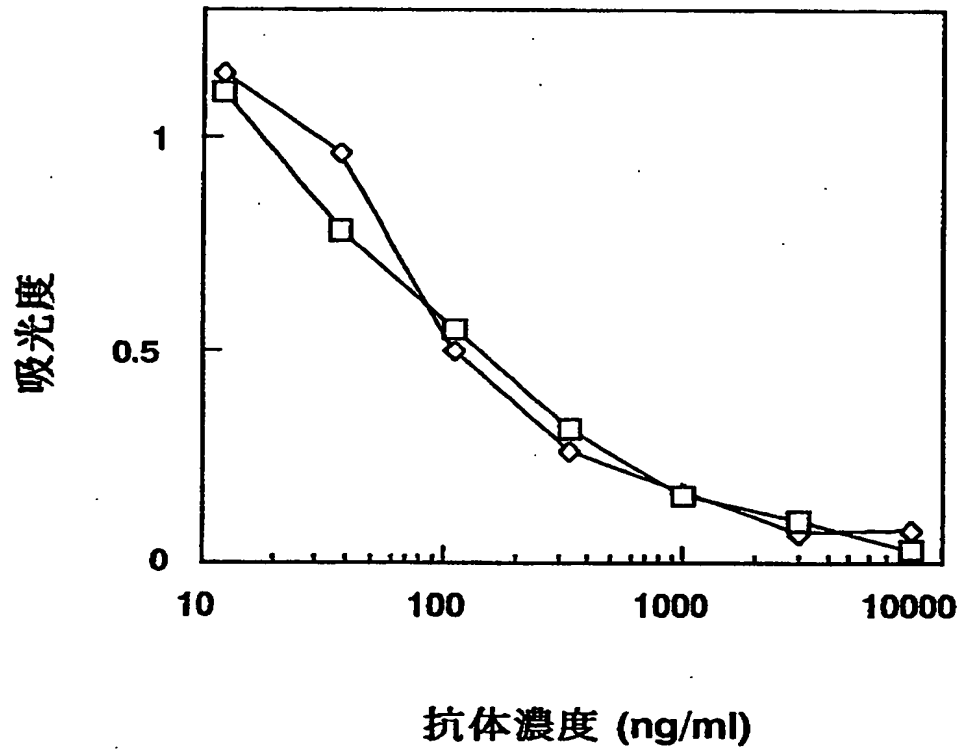


【図5】



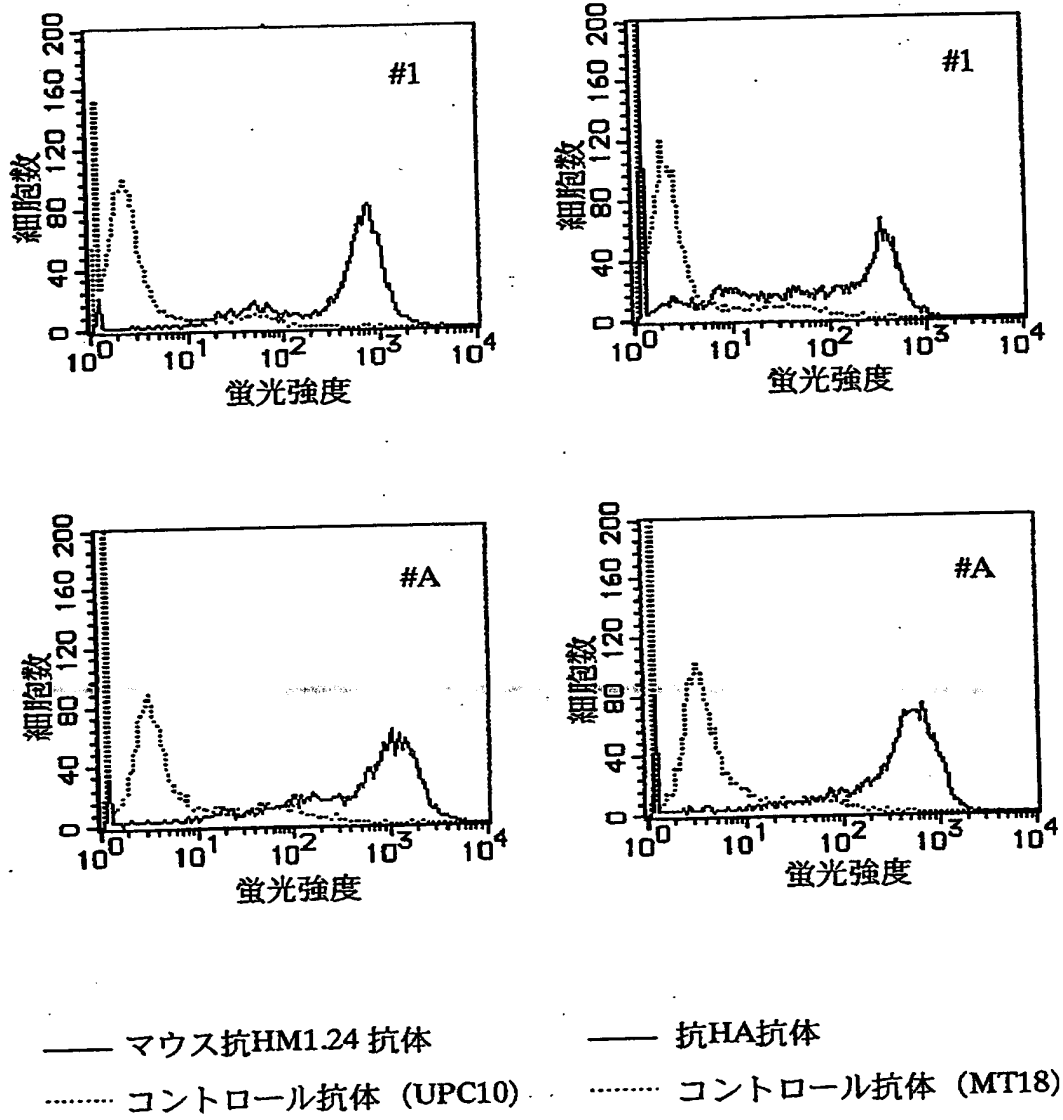
- コントロール
- ◇— コントロール
- HM 4 mg/kg 投与
- △— HM 4 mg/kg 投与
- HM 40 mg/kg 投与
- ◆— HM 40 mg/kg 投与

【図 6】

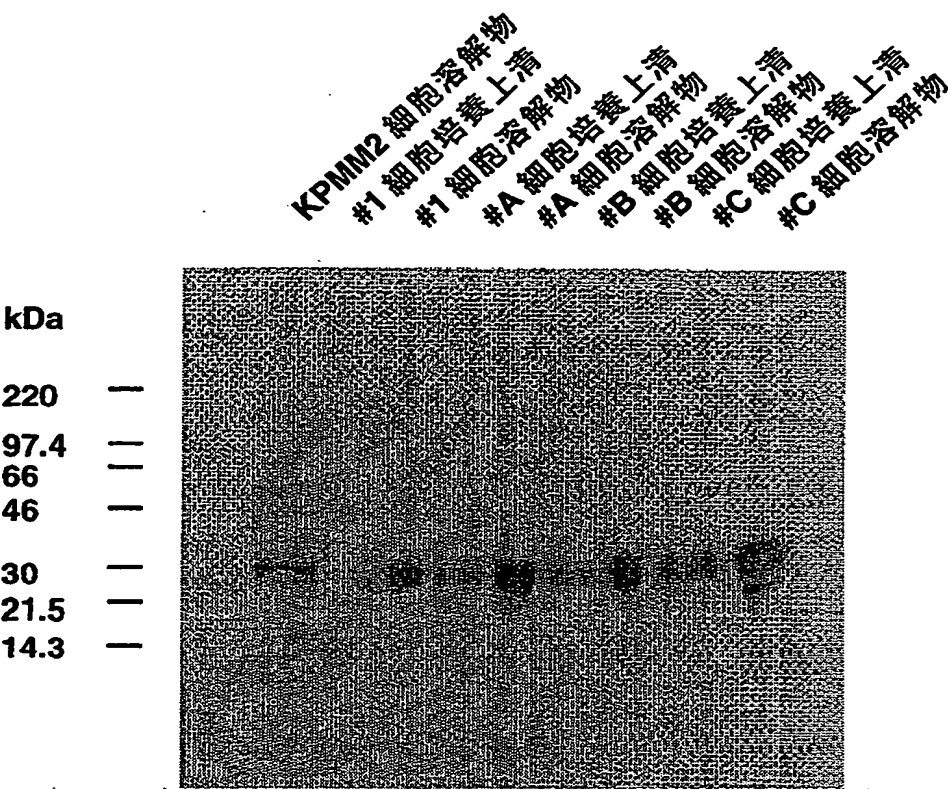


—□— ヒト型化抗 HM1.24 抗体
—◇— キメラ型抗 HM1.24 抗体

【図7】

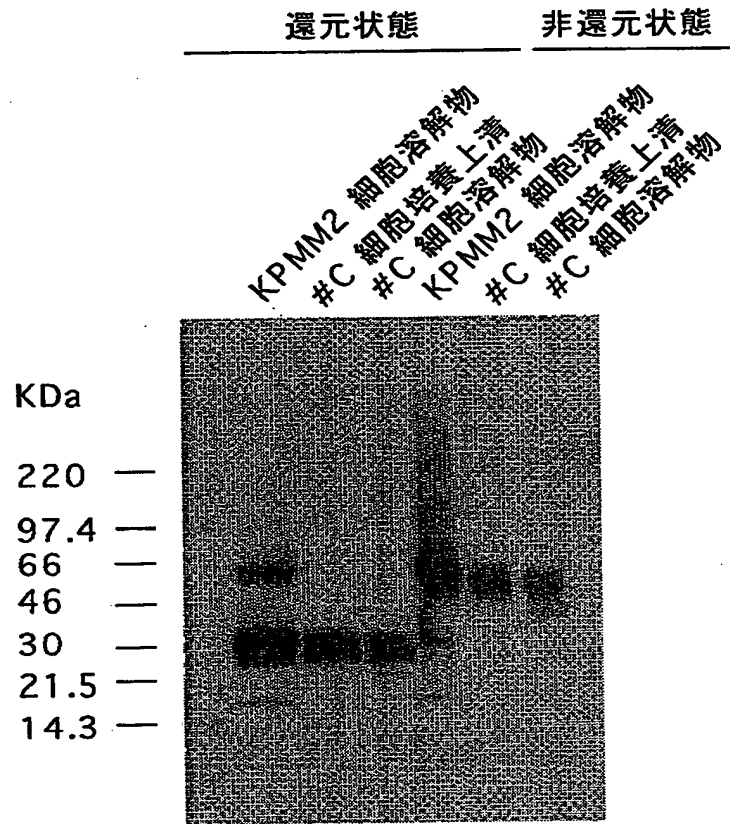


【図8】

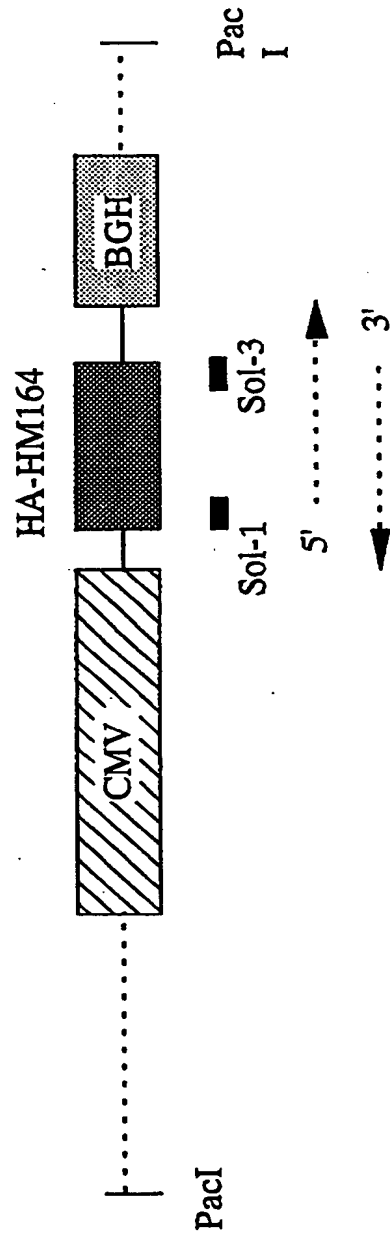


特平 10-060613

【図9】

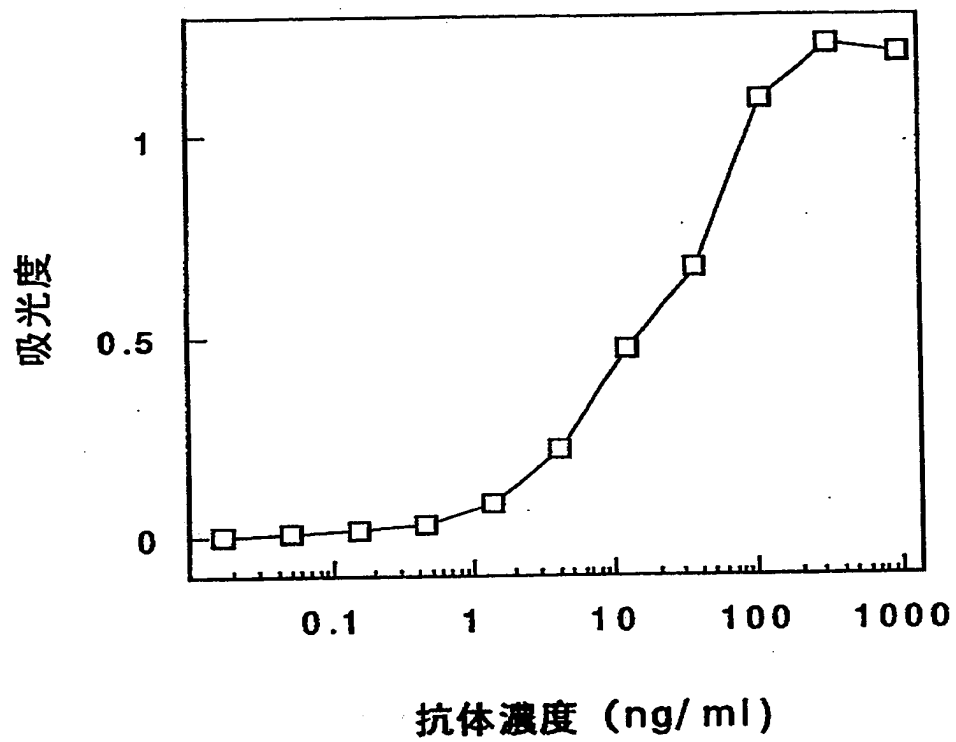


【図 10】

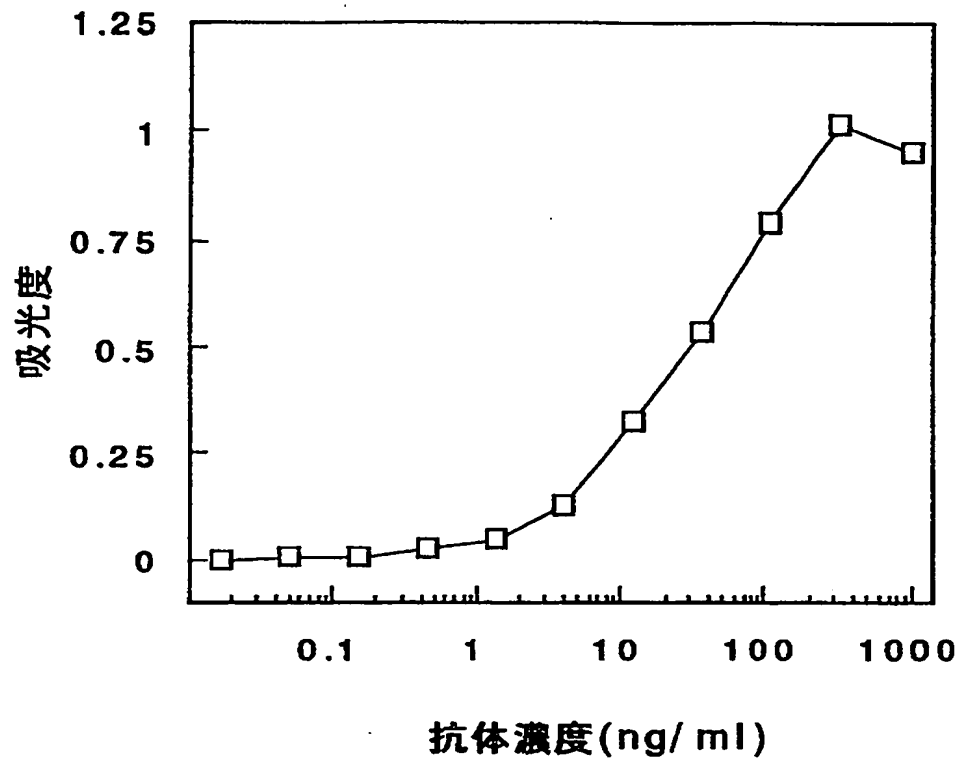


特平 10-060613

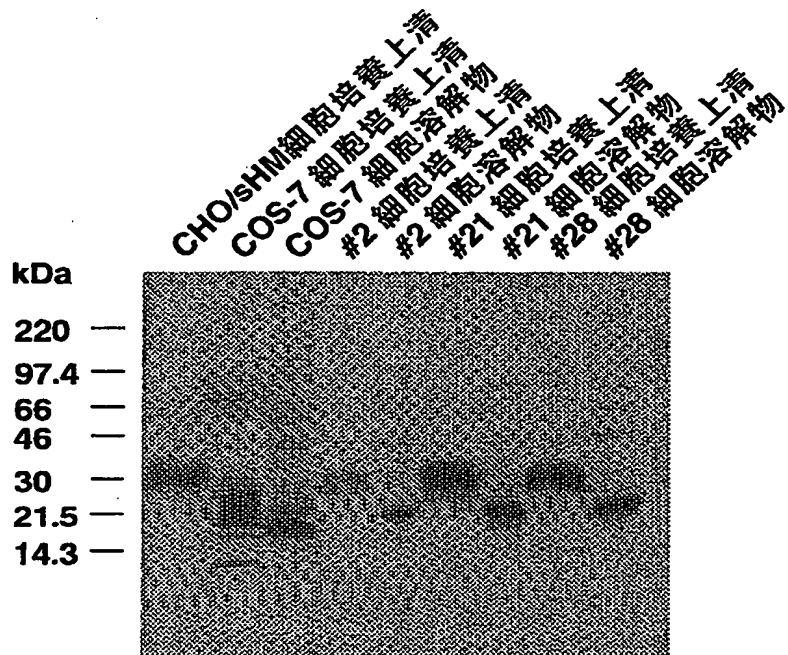
【图 1 1】



【图12】



【图13】



【图14】

GAATCGGCACGAGGATCTGGATGGCATCTACTTCGTATGACTATTGCAGAGTGCCCAT	60
M A S T S Y D Y C R V P M	13
GGAAGACGGGATAAGCGCTGTAACTTCTGCTGGGATAGGAATTCTGGTCTCCTGAT	120
E D G D K R C K L L L G I G I L V L L I	33
CATCGTATTCTGGGGTCCCTTGATTATCTTCACCATCAAGGCCAACAGCGAGGCTG	180
I V I L G V P L I I F T I K A N S E A C	53
CCGGACGGCCTTCGGGCAGTGATGGAGTGTGCGCAATGTCAACCCATCTCCTGCAACAAGA	240
R D G L R A V M E C R N V T H L L Q Q E	73
GCTGACCGAGGCCCAAGGGCTTTCAGGATGTGAGGCCAGGCCGCCACCTGCAACCA	300
L T E A Q K G F Q D V E A Q A A T C N H	93
CACTGTGATGGCCCTAATGGCTTCCCTGGATGCAGAGAAGGCCCAAGGACAAAGAAAGT	360
T V M A L M A S L D A E K A Q G Q K K V	113
GGAGGAGCTTGAGGAGAGATCACTACATTAAACCATTAAGCTTCAGGACGCGTCTGCAGA	420
E E L E G E I T T L N H K L Q D A S A E	133
GGTGAGCGACTGAGAAAGAGAAACCAGGTCTTAAGCGTGAGAAATCGCGACAAAGAGTA	480
V E R L R R E N Q V L S V R I A D K K Y	153
CTACCCAGCTCCAGGACTCCAGCTCCGCTCGCGGCCGCCAGCTGCTGATTGTGCTGCT	540
Y P S S Q D S S S A A A P Q L L I V L L	173

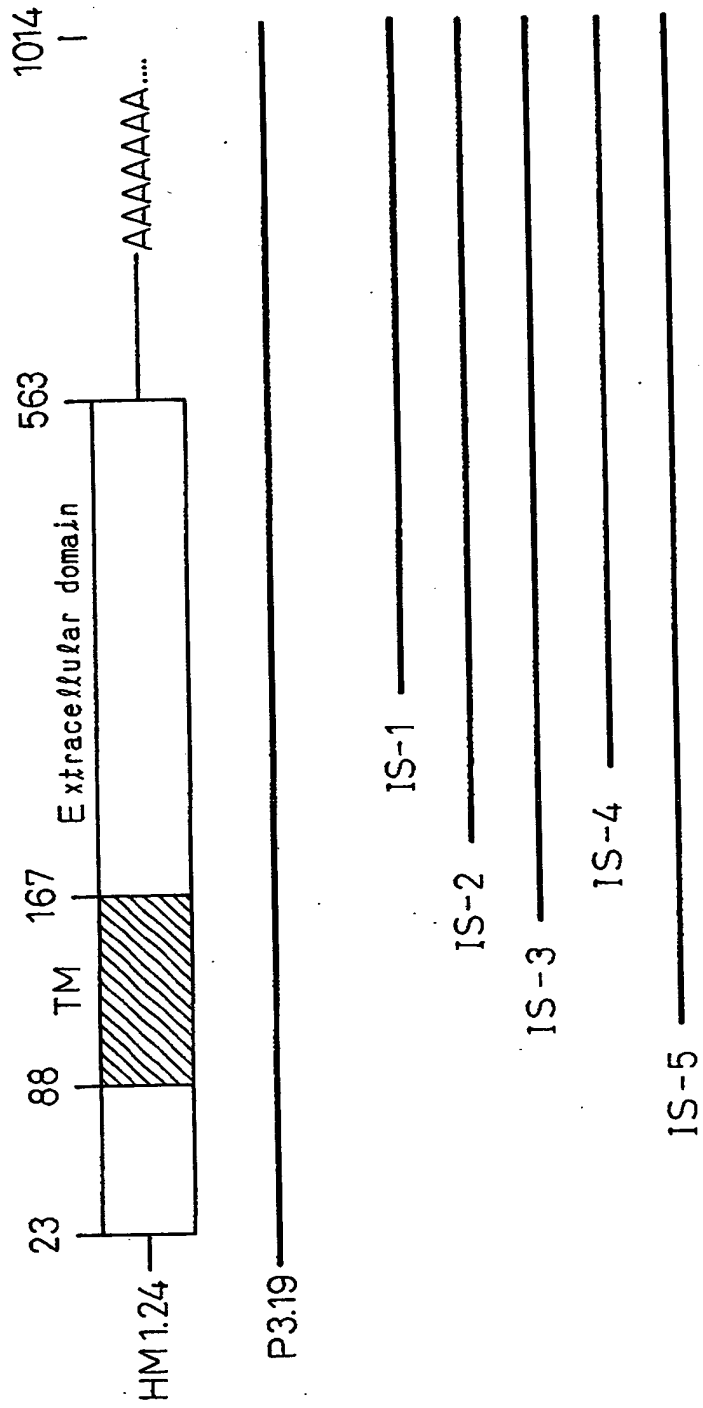
(配列番号: 16)

【図 15】

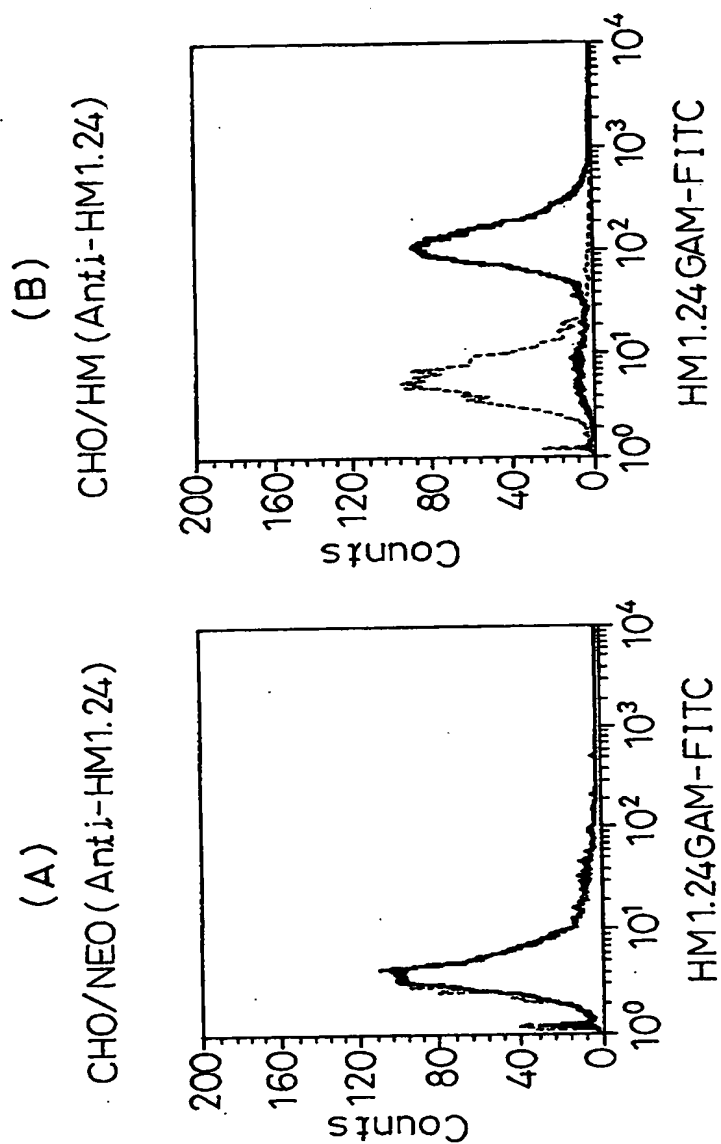
GGCCCTCAGCGCTCTGCTGCAGTGAGATCCAGGAAGCTGGCACATCTTGGAAGTCCGT 600
 G L S A L L Q * 180
 CCTGCTCGGCTTTTCGCTTGAACATTCCTTGATCTCATCAGTTCTGAGCGGGTCATGGG 660
 GCAACACGGTTAGCGGGGAGAGCACGGGGTAGCCGGAGAGGGCCCTCTGGAGCAGGTCG 720
 GAGGGCCATGGGGCAGTCCTGGGTGTGGGACACAGTCGGGTGACCCAGGGCTGTCTC 780
 CCTCCAGAGCCCTCCCTCCGGACAAATGAGTCCCCCTCTGTCTCTCCACCCCTGAGATTGGG 840
 CATGGGTGCGGTGTGGGGGCATGTGCTGCCTGTTGTTATGGGTTTTTTTTCGGGGGG 900
 GGTGCTTTTTTCTGGGCTCTTTGAGCTCCAAAAAATAAACTTCCTTTGAGGGAGAG 960
 CACACCTTAAAAAATAAAAAAATAAAAAATTCGGCGGCCGCCA 1014

(配列番号: 16)

【図16】

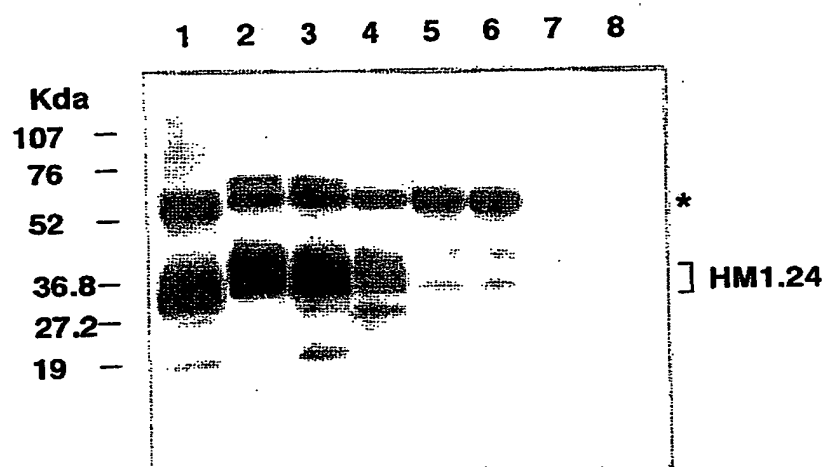


【図 17】



特平10-060613

【図18】



- レーン1 : KPMM2 (5×10^5 細胞相当)
- レーン2 : RPM18226 (25×10^5 細胞)
- レーン3 : U266 (25×10^5 細胞)
- レーン4 : CHO/HM (5×10^5 細胞)
- レーン5 : CHO/NEO (5×10^5 細胞)
- レーン6 : なし
- レーン7 : KPMM2 (5×10^5 細胞)
- レーン8 : CHO/HM (5×10^5 細胞)